

# 黄芪总皂苷与赤芍总苷协同抗血栓作用

徐先祥<sup>1</sup>, 刘青云<sup>2</sup>, 彭代银<sup>2</sup>, 夏伦祝<sup>1</sup>, 高家荣<sup>1</sup>

1. 安徽中医学院第一附院药剂科, 安徽 合肥 230032;
2. 安徽中医学院药理学系, 安徽 合肥 230038;
3. 安徽省芜湖三益制药有限公司, 安徽 芜湖 241001)

**摘要:** 运用肺栓塞、动脉血栓形成、脑血栓形成三种实验性血栓形成模型, 观察黄芪总皂苷(AS)和赤芍总苷(TSP)以各种剂量配伍时的作用; 结果 AS 和 TSP 均具有不同程度抗各种实验性血栓形成作用或趋势, 配伍后作用更佳, 抗凝作用则源于赤芍总苷, 应用二因素五水平均匀设计方法观察到 AS 50mg/kg 和 TSP 150mg/kg 配伍时抗动脉血栓形成作用最佳, 该剂量下两药配伍对于大鼠脑血栓有相加的保护作用。表明 AS 和 TSP 有协同抗血栓形成作用。

**关键词:** 黄芪总皂苷; 赤芍总苷; 抗血栓; 协同作用

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)03-0035-04

## Synergistic Antithrombotic Action Between Astragalosides And Total Saponins Of Paeonia

XU Xian-xiang<sup>1</sup>, LIU Qing-yun<sup>2</sup>, XU Xian-jun<sup>3</sup>, PENG Dai-yin<sup>2</sup>, XIA Lun-zhu<sup>1</sup>, GAO Jia-rong<sup>1</sup>

1. Department of Phar., The First Affiliated Hospital of Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230032, China;
2. Department of Phar., Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China
3. Wuhu SanYi Pharmaceutic Co., Ltd., Wuhu 241001, China)

**Abstract:** Objective: To investigate the interactions between astragalosides (AS) and total saponins of paeonia(TSP) with various dosage. Methods: Using pulmonary embolism, artery thrombosis and cerebral thrombosis experimental thrombosis models. Results and Conclusion: AS and TSP showed apparent anti-thrombosis effects, and better when they were used together. The anti-thrombotic effects on artery thrombosis were the strongest when AS at dose of 50mg/kg co-operated with TSP at dose of 150mg/kg with uniform design method.

**Key words:** Astragalosides; Total Saponins of Paeonia; Anti-thrombotic; Synergistic effect

中医学认为气血关系密切,“气为血之帅,血为气之母”,“气行则血行,气虚则血瘀”。因此,益气活血成为中医活血化瘀的一条重要治则,临床上常见活血药与益气药配伍使用,如由黄芪和赤芍、当归、地龙等组成的补阳还五汤。现代药理研究<sup>[1,2]</sup>表明:单味黄芪和赤芍均有一定的心血管活性,配伍后则可协同发挥抗血小板聚集,改善血液流变性等作用,体现了中医学气血理论。黄芪总皂苷和赤芍总苷为黄芪和赤芍中的主要活性部位,两者配伍作用如何,本文对其进行了抗血栓作用的实验研究。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康昆明种小白鼠,雌雄各半,体重 20±2g,购自安徽省医学科学研究所动物中心,合格证号:皖医实动准字第 01 号;Wistar 大白鼠,雌 310~

430g,雄 410~540g,均在 18 月龄以上,购自安徽省医学科学研究所动物中心,合格证号:皖医实动准字第 03 号。

**1.2 药物** 黄芪总皂苷(Astragalosides, 简称为 AS),系从豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* Burge. 干燥根提取,为易吸湿的淡黄色粉末,纯度在 50% 以上,由合肥恒星药物研究所惠赠,临用时用蒸馏水配成所需浓度混悬液供灌胃使用;赤芍总苷(Total Saponins of Paeonia, 简称为 TSP),系从芍药科植物芍药 *Paeonia lactiflorin* Pall. 未去皮干燥根提取,为易吸湿的淡棕色粉末,纯度在 60% 以上,由安徽省医学科学研究所惠赠,临用时用蒸馏水配成所需浓度混悬液供灌胃使用。ADP (5-腺苷二磷酸钠),Sigma 公司;盐酸肾上腺素注射液,上海禾丰制药有限公司,批号 990402;凝血酶,南京南大药业有限责任公司,批号 9907203;阿司匹林肠溶片,南京恒生制药

厂,批号 991222,临用时用蒸馏水配成所需浓度混悬液供灌胃使用;对照组动物给予同等体积蒸馏水。

**1.3 仪器** BT87-3 型实验性体内血栓形成测定仪,包头医学院心血管研究室研制;毛细玻管(内径 1mm,长 100mm),华西医科大学仪器修造厂生产。

## 2 方法

**2.1 肺栓塞时间测定** 小鼠 100 只,随机分为 10 组,每组 10 只,雌雄各半,即对照组,AS50, 100, 200mg/kg 剂量组, TSP50, 100, 200mg/kg 剂量组, AS 50mg/kg + TSP 50mg/kg 剂量组, AS 100mg/kg + TSP 100mg/kg 剂量组和阿司匹林 40mg/kg 剂量组。以上各组分别按 0.2ml/10g 灌胃给予药液或对照液,每天 1 次,连续 7d。末次给药后 1h,参考文献方法<sup>[3]</sup>,自小鼠尾静脉注射 0.1ml 混合致栓剂(ADP 1.5 $\mu$ g/只,肾上腺素 10 $\mu$ g/只),动物随即出现呼吸喘促,不能活动,记录自注射诱导剂至小鼠恢复自主活动所需的时间,作为肺栓塞时间,数据进行组间 *t* 检验,结果见表 2。

**2.2 凝血时间的测定** 小鼠 100 只,分组及给药方法均同 2.1,末次给药后 1h,用毛细玻管法<sup>[4]</sup>测定凝血时间,数据进行组间 *t* 检验,结果见表 3。

**2.3 动脉血栓形成试验** 大鼠 56 只,随机分为 7 组,每组 8 只,雌雄各半,给药组按均匀设计<sup>[5]</sup>的要求,AS 和 TSP 均取 5 个水平,即 0, 50, 100, 150, 200mg/kg 进行配伍,选用  $U_5(5^4)$  均匀设计表的前两列设置配伍组见表 1,另设对照组和阿司匹林 40mg/kg 组,以上各组分别按 1ml/100g 灌胃给予药液或对照液,每天 1 次,连续 7d。末次给药后 1h,参考文献方法<sup>[6]</sup>,将大鼠用 40mg/kg 戊巴比妥钠麻醉,固定,切开颈部皮肤,小心分离出颈总动脉约 1.5cm,以 2.0mA 电流刺激 2min,当颈总动脉温度突降时,仪器自动报警,记录自通电刺激至颈总动脉温度突降时间,作为血栓形成时间。数据进行组间 *t* 检验,并进行二元方程回归,结果见表 4。

表 1 均匀设计分组

组号	因素 A: AS		因素 B: TSP
1	0mg/kg	+	50mg/kg
2	50mg/kg	+	150mg/kg
3	100mg/kg	+	0mg/kg
4	150mg/kg	+	100mg/kg
5	200mg/kg	+	200mg/kg

**2.4 均匀设计的验证试验** 根据均匀设计的要求,对 2.3 的优选组 AS 50mg/kg 和 TSP 150mg/kg 配伍组

进行验证试验,拆方为 AS 50mg/kg 组, AS 200mg/kg 组, TSP 150mg/kg 组, TSP 200mg/kg 组, 对照组设置及操作方法均同 2.3, 所得数据进行两因素析因方差分析<sup>[7]</sup>, 结果见表 5。

**2.5 脑血栓形成试验** 大鼠 64 只, 随机均分为 8 组, 每组 8 只, 雌雄各半, 给药组分为 AS 50mg/kg + TSP 150mg/kg 组, AS 100mg/kg + TSP 300mg/kg 组, AS 25mg/kg + TSP 75mg/kg 组, AS 50mg/kg 组和 TSP 150mg 组, 另设对照组、模型对照组和阿司匹林 40mg/kg 组, 以上各组分别按 1ml/100g 灌胃给予药液或对照液, 每天 1 次, 连续 7d。末次给药后 1h, 大鼠用 40mg/kg 戊巴比妥钠麻醉, 按文献方法<sup>[8]</sup>制作脑血栓模型: 于右颈总动脉远心方向插入三通管, 各组按 0.1ml/100g 注入混合诱导剂(ADP 1.25mmol/L, 凝血酶 12.5u/L, 肾上腺素 1mg/ml, 按 100: 200: 5 体积混匀, 对照组按 0.1ml/100g 注入生理盐水, 5min 后, 按 0.5ml/100g 注 0.5% 伊文思蓝, 再过 5min, 迅速断头, 取两大脑半球, 称重, 加入 0.5%  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  3ml 及丙酮 7ml, 制作匀浆, 密封放置 1h, 3000rpm 离心 10min, 取上清液, 以生理盐水调零, 620nm 比色, 测定透光率 T 值, 以 T 与脑重的比值表示脑血栓的严重程度。数据进行组间 *t* 检验, 结果见表 6。

## 3 结果

**3.1 药物对实验性小鼠肺栓塞的保护作用** 表 2 中, AS 100mg/kg + TSP 100mg/kg 组优于单独的 AS 100mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), AS 200mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), TSP 100mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ) 和 TSP 200mg/kg 组 ( $P < 0.05$ ), AS 50mg/kg + TSP 50mg/kg 组优于单独的 AS 100mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), TSP 50mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ) 和 TSP 100mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), 表明两药配伍具有显著的协同抗小鼠肺栓塞作用。

表 2 黄芪总皂苷和赤芍总苷配伍对小鼠肺栓塞的保护作用( $\bar{x} \pm s; n = 10$ )

组别	剂量(mg/kg)	栓塞时间(s)
对照组	--	663.7 $\pm$ 98.9
阿司匹林	40	267.1 $\pm$ 93.8**
AS 低	50	550.2 $\pm$ 83.1
AS 中	100	531.6 $\pm$ 66.0*
AS 高	200	432.5 $\pm$ 83.0**
TSP 低	50	472.1 $\pm$ 75.4**
TSP 中	100	470.5 $\pm$ 83.1**
TSP 高	200	372.6 $\pm$ 57.5**
50 配伍组	AS50+ TSP50	360.3 $\pm$ 86.5**
100 配伍组	AS100+ TSP100	309.7 $\pm$ 64.8**

注: 与对照组比较\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ (下同)。

**3.2 药物对小鼠凝血时间的影响** 表 3 中, AS

100mg/kg + TSP 100mg/kg 组与 TSP 100 ( $P > 0.05$ ), TSP 200mg/kg ( $P > 0.05$ ), AS 200 mg/kg 组 ( $P > 0.05$ ), AS 50mg/kg+ TSP 50mg/kg 组与 TSP 50 ( $P > 0.05$ ), TSP 100mg/kg ( $P > 0.05$ ) 组间比较均无显著性差异,表明两药配伍后的抗凝血作用主要源于其中的 TSP。

表 3 黄芪总皂苷和赤芍总苷配伍对小鼠凝血时间的影响( $\bar{x} \pm s; n = 10$ )

组别	剂量(mg/kg)	凝血时间(s)
对照组	--	263.7 ± 55.7
阿司匹林	40	404.2 ± 69.5**
AS 低	50	252.6 ± 81.7
AS 中	100	259.9 ± 93.7
AS 高	200	315.7 ± 70.6*
TSP 低	50	344.7 ± 88.4*
TSP 中	100	371.1 ± 36.1**
TSP 高	200	371.2 ± 57.0**
50 配伍组	AS50+ TSP50	370.9 ± 85.6*
100 配伍组	AS100+ TSP100	394.2 ± 97.5**

### 3.3 药物对实验性大鼠动脉血栓形成时间的影响

以上 1:1 的配伍未必是最佳配伍,因此安排均匀设计试验来寻找最佳试验组。将表 4 数据进行二元方程回归,得方程  $Y = 467.4 - 0.753X_A + 2.001X_B$  ( $X_A$  为 AS,  $X_B$  为 TSP,方程经方差分析  $F = 7.93 > F_{0.05}(1, 14) = 4.60, P < 0.05$ ,表明方程可信),从方程来看,AS 剂量宜小,TSP 剂量宜大,但由于均匀设计未考虑因素间的相互作用,另外本次实验的分布点较少(五组),若仅从优选试验组出发,从五个试验组的结果来看,各组均有不同程度的抗血栓作用或作用趋势,而以 AS 50mg/kg+ TSP150mg/kg 组作用最好,可将此组作为最佳的配伍组。

表 4 黄芪总皂苷和赤芍总苷各配伍组的动脉血栓形成时间( $\bar{x} \pm s; n = 8$ )

组别	剂量(mg/kg)	血栓形成时间(s)
对照组	--	408.3 ± 80.7
阿司匹林	40	489.2 ± 48.8*
1	TSP50	457.7 ± 50.2
2	AS 50+ TSP150	559.3 ± 98.2**
3	AS100	454.8 ± 64.8
4	AS150+ TSP100	505.8 ± 90.4*
5	AS200+ TSP200	510.0 ± 62.4*

3.4 验证试验结果 表 5 中, AS50mg/kg + TSP150mg/kg 组的抗动脉血栓形成作用优于拆方所

得的其它四组 AS50mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), AS200mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), TSP 150mg/kg 组 ( $P < 0.01$ ), TSP200mg/kg 组 ( $P < 0.01$ )。对其进行两因素析因方差分析,配伍组  $F = 5.47 > F_{0.05}(1, 20) = 4.35, P < 0.05$ ,表明 AS50mg/kg 与 TSP150mg/kg 配伍后具有显著协同抗动脉血栓形成作用。

表 5 均匀设计的验证试验结果( $\bar{x} \pm s; n = 6$ )

组别	剂量(mg/kg)	血栓形成时间(s)
对照组	--	411.3 ± 34.3
阿司匹林	40	523.8 ± 70.7**
拆方组	AS 50	439.5 ± 27.6
拆方组	AS 200	461.5 ± 52.2*
拆方组	TSP 150	499.3 ± 25.4**
拆方组	TSP 200	515.7 ± 48.8**
合方组	AS 50+ TSP 150	585.3 ± 32.9**

3.5 药物对实验性大鼠脑血栓形成的影响 由表 6 可见,与模型组比较,各给药组均有显著的抗实验性脑血栓形成作用,其中 AS 50mg/kg+ TSP 150mg/kg 配伍组与 AS 50mg/kg 组, TSP 150mg/kg 组经析因方差分析,  $F = 1.32 < F_{0.05}(1, 24) = 4.26, P > 0.05$ ,未见协同作用。但 AS 50mg/kg+ TSP 150mg/kg 配伍组与单独的 AS 50mg/kg 组和 TSP 150mg/kg 组比较  $P$  值均  $< 0.01$ ,表明 AS 50mg/kg 和 TSP 150mg/kg 配伍对于实验性大鼠脑血栓形成有相加的保护作用。

表 6 黄芪总皂苷和赤芍总苷配伍对脑血栓形成的保护作用( $\bar{x} \pm s; n = 6$ )

组别	剂量(mg/kg)	T/脑重( $g^{-1}$ )
对照组	--	62.0 ± 14.2
模型组	--	22.9 ± 7.8**
阿司匹林	40	48.1 ± 12.6 $\Delta\Delta$
配伍低剂量	AS25+ TSP75	47.4 ± 10.5 $\Delta\Delta$
配伍中剂量	AS 50+ TSP 150	57.0 ± 10.0 $\Delta\Delta$
配伍高剂量	AS 100+ TSP 300	58.5 ± 11.4 $\Delta\Delta$
TSP	150	34.4 ± 5.1 $\Delta\Delta$
AS	50	38.3 ± 7.7 $\Delta\Delta$

注:与模型组比较  $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

## 4 讨论

血栓形成是涉及血液、血管、血流因素的复杂病理过程。本实验中,小鼠尾静脉注射 ADP+ 肾上腺素使得血液经肺循环时发生血小板聚集而出现呼吸障碍;电刺激使得动脉血管的内皮细胞受损,引起血小板粘附、聚集,进一步形成血栓而阻断血流,致动脉温度骤降;以 ADP、凝血酶和肾上腺素为复合诱导

剂,注入脑部后血管收缩、内皮细胞受损、血小板聚集释放、纤维蛋白凝固致脑血栓形成,注入伊文思蓝后发生外渗。黄芪总皂苷和赤芍总苷对于以上各种血栓形成模型具有不同程度的抑制作用或趋势,两者配伍后则可显著协同发挥抗血栓形成作用,体现了中医学“气血相关”理论,证明了“益气活血法”的正确性。而具体两药作用于血栓形成哪些环节以及如何发挥协同作用,有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 薛建欣,蒋莹,严永清,等. 香附、川芎、赤芍、黄芪、归尾配伍抗血小板聚集作用及某些机理[J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(1): 39-43.
- [2] 薛建欣,严永清,蒋莹,等. 黄芪、归尾、香附、川芎、赤芍配伍对“血瘀”大鼠血液流变学的影响[J]. 中国中药杂

志, 1994, 19(2): 108-110.

- [3] Giovanni Diminno and Mellvin J. Silver. Mouse antithrombotic assay: A simple method for the evaluation of antithrombotic activity by Ethyl Alcohol [J]. J. Pharmacol Exp Ther: 1983, 225: 57.
- [4] 李仪奎,王钦茂. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社. 1991: 494-495.
- [5] 王鹏,王玉珠,沈建民,等. 均匀设计及其在药学中的应用[J]. 沈阳药学院学报, 1989, 6(4): 297-306.
- [6] 覃建民,李增,石山. 实验性体内血栓形成测定仪的研制和使用[J]. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 264, 240.
- [7] 陈和利. 两因素析因设计资料方差分析简便法[J]. 药物流行病学杂志, 1999, 8(4): 238-239.
- [8] 周以华,申京健,王荣刚,等. 脑益嗪对实验性血栓形成及血小板聚集的抑制作用[J]. 药学学报, 1988, 23(5): 332.